

2012 年度日本顕微鏡学会電子顕微鏡二級技士技術認定試験問題

問1. リボソームを内在する細胞小器官はどれか。

- A. 葉緑体
 - B. ライソソーム
 - C. ミトコンドリア
 - D. ペルオキシソーム
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問2. 細胞骨格について正しいのはどれか。

- A. 微小管, 中間径線維およびアクチンフィラメントに大別される
 - B. 微小管は直径 24 nm の細管構造をなす
 - C. 中間径線維は直径 7 nm の細糸である
 - D. アクチンフィラメントは有糸分裂に関与する
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問3. 正しいのはどれか。

- A. 細菌の細胞壁はセルロースを主成分とする
 - B. 細胞膜の厚さは約 10 nm で 3 層構造を示す
 - C. ウイルスには細胞壁がない
 - D. 植物の細胞壁はペプチドグリカンで構成される
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問4. 小胞体について正しいのはどれか。

- A. 動物細胞に特有な構造体である
 - B. 粗面小胞体は表面にリボソームが付着している
 - C. 核膜とつながっている
 - D. 滑面小胞体はタンパク質合成に関与する
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問5. ミトコンドリアについて正しいのはどれか。

- A. 二重の膜構造で囲まれている
 - B. 植物細胞に特有な構造体である
 - C. クリステは膜の積み重ね構造でグラナとも呼ばれる
 - D. マトリックスにはクエン酸回路の酵素群が存在する
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問6. 正しいのはどれか。

- A. グルタルアルデヒドはアルデヒド基を一つ持つ
 - B. パラホルムアルデヒドは塩酸を入れて溶解する
 - C. 四酸化オスミウムはリン脂質などをよく固定する
 - D. タンニン酸は媒染効果がある
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問7. グルタルアルデヒドと直接混合して用いることができる溶液はどれか。

- A. 四酸化オスミウム
 - B. タンニン酸
 - C. 過マンガン酸カリウム
 - D. ホルムアルデヒド
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問8. ホルムアルデヒドについて正しいのはどれか。

- A. パラホルムアルデヒドは白色の粉末あるいは顆粒状である
 - B. グルタルアルデヒドに比べて架橋が安定している
 - C. 調製した固定液は長期保存できる
 - D. グルタルアルデヒドに比べて速やかに組織内へ浸透する
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問9. 固定について正しいのはどれか。

- A. 微細形態に大きく影響を与えるのは固定剤を除いた浸透圧である

B. 四酸化オスミウム固定は1～2%で2時間以内にする

- C. 灌流固定では4°Cに冷却した固定液を用いる
 - D. 免疫電顕法には2%以上のグルタルアルデヒドを用いる
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問10. 固定について正しいのはどれか。

- A. 微小管の固定は4°Cで行う
 - B. 微生物は小さいので固定は動物細胞よりも短時間でよい
 - C. 植物組織の固定では脱水することがある
 - D. 硬組織の透過電顕観察は固定後に脱灰処理する
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問11. 脱水剤について正しいのはどれか。

- 1. 分子量が小さいほど脱水が速く, 試料の収縮が小さい
- 2. 分子量が小さいほど脱水が速く, 試料の収縮が大きい
- 3. 分子量が大きいほど脱水が速く, 試料の収縮が小さい
- 4. 分子量が大きいほど脱水が速く, 試料の収縮が大きい
- 5. 分子量は脱水速度に影響を与えるが, 試料収縮には影響を与えない

問12. 脱水について正しいのはどれか。

- A. アセトンで脱水した試料は置換剤を用いなくてもエポキシ系樹脂に包埋できる
 - B. 100%エタノールを得るためにモレキュラーシーブスを用いた
 - C. プロピレンオキサイドには脱水作用がある
 - D. エタノールで脱水すると細胞成分は流失しない
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問13. 包埋樹脂について正しいのはどれか。

- A. アクリル系樹脂は低温下で紫外線重合することができる
 - B. エポキシ系樹脂は酸素の存在下で重合が阻害される
 - C. メタクリレート系樹脂は重合時の収縮が大きい
 - D. ポリエステル系樹脂は重合時の収縮が大きい
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問14. エポキシ樹脂包埋 (Luft法) で硬さの調節に使用するのはどれか。

- A. Epon 812
 - B. MNA
 - C. DMP-30
 - D. DDSA
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問15. 超薄切片の作製について正しいのはどれか。

- A. ガラスナイフは右端側を使用する
 - B. ダイヤモンドナイフの逃げ角は6度程度にする
 - C. 薄切時にはナイフポートの水は盛り上げるように入れる
 - D. 超薄切片の厚さはポート水面に浮かんだ切片の干渉色で判断する
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問16. 樹脂切片の厚さを干渉色で見たとき, 厚い方から順に並んでいるのはどれか。

- 1. 青 紫 金 銀 灰
- 2. 灰 青 銀 金 紫
- 3. 紫 青 金 灰 銀
- 4. 青 金 紫 銀 灰
- 5. 金 紫 青 銀 灰

問17. 超薄切片作製時にチャターが起こりやすい原因はどれか。

- A. ナイフの逃げ角が大きすぎる
- B. 切削のスピードが遅すぎる

- C. 切削面が小さすぎる
D. 樹脂の重合が不完全である

1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
問18. 連続切片を一枚のグリッドに多く載物する際、切削面形状で適切なものはどれか。



問19. 薄切時に厚い切片と薄い切片が交互に現れる原因はどれか。

- A. 試料ブロックの締め付けが悪い
B. 照明の角度が悪い
C. ナイフが鋭利でない
D. 薄切面がナイフと平行になっていない
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問20. 飽和酢酸ウラニル水溶液を切片染色に使用する際、正しいのはどれか。

- A. 溶解度（飽和度）は室温で20%である
B. 一年前に作製したものは染色性が低下する
C. 使用済み染色液は、回収して何度でも使用できる
D. シリンジフィルターでろ過すると、試料汚染を防ぐのに有効である
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問21. 鉛染色液について正しいのはどれか。

- A. クエン酸鉛法で使用される試薬は炭酸鉛とクエン酸ナトリウムである
B. 染色時間は通常1～5分程度で行われる
C. 染色時に二酸化炭素と反応して生じた沈殿物は試料汚染の原因になる
D. 長期保存には常温が適している
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問22. トルイジンブルー染色で試料の中心部分が周辺より薄く染色された。正しいのはどれか。

- A. 周辺部分は固定が良好である
B. 脱水が不十分である
C. エポキシ樹脂の重合が不十分である
D. 組織片が大きすぎる
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問23. 準超薄切片を光顕観察する方法について正しいのはどれか。

- A. 切片の厚さは0.5 μm程度にする
B. 切片をスライドガラスに圧着する
C. 切片の上にトルイジンブルー染色液を滴下して温める
D. 染色液を洗い流さずに数秒～数十秒後に観察する
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問24. 電子線照射による生物試料の損傷を軽減するのに有効な方法はどれか。

- A. スポットサイズを大きくする
B. 加速電圧を上げる
C. 試料に薄くカーボンを蒸着する
D. 対物絞りの孔径を大きくする
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問25. 電顕写真に0.5 μmを表す長さ10 mmのスケールバーが入っている。プリント時に2倍に拡大したとすると、撮影時のネガの倍率は何倍か。

- 問26. 酵素と細胞構造の組合せについて正しいのはどれか。
1. Na⁺・K⁺-ATPase ————— 細胞膜
2. グルコース-6-ホスファターゼ ———— ゴルジ装置
3. チアミンピロホスファターゼ ———— 葉緑体
4. カタラーゼ ————— ミトコンドリア
5. 酸性ホスファターゼ ————— ペルオキシソーム

問27. 電顕酵素組織化学について正しいのはどれか。

- A. 強い酵素活性を得るためには固定を長時間行う
B. ホスファターゼの反応液にはリン酸緩衝液を用いる
C. ホスファターゼの反応産物は金属塩を用いて捕捉する
D. 酵素活性の検出には反応基質のpH、浸透圧に留意をする
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問28. 免疫電顕法について正しいのはどれか。

- A. ホルムアルデヒドによる架橋は可逆的である
B. LR White樹脂包埋切片が包埋後免疫染色法に用いられることが多い
C. ペルオキシダーゼ標識抗体は通常包埋後免疫染色法に用いる
D. 2.5%グルタルアルデヒドは免疫反応性を高める
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問29. 免疫電顕法の包埋前染色法の一次抗体反応はどの手順の後に行うのが適当か。

1. 固定
2. ブロッキング
3. ペルオキシダーゼ標識二次抗体反応
4. 超薄切
5. 電子染色

問30. 免疫電顕法の包埋後染色法の手順について正しいのはどれか。

- A. 固定
B. 超薄切片作製
C. LR White樹脂包埋
D. 免疫反応
E. 電顕観察
1. ABCDE 2. ABDCE 3. ACBDE
4. ACDBE 5. ADBCE 6. ADCBE

問31. 組織の凍結置換固定について正しいのはどれか。

- A. 氷晶が形成されても膜構造は保存される
B. 凍結置換剤にはアセトンがよく用いられる
C. 凍結置換は1時間程度で十分である
D. 凍結置換を行う温度は通常-80°Cである
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問32. フリーズフラクチャー法について正しいのはどれか。

- A. グリセリン処理により生体膜は良く保存される
B. 生体膜の親水基のところで切断される
C. 試料を回転しながら蒸着することがある
D. 膜の内部構造の観察に適している
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問33. オートラジオグラフィーについて正しいのはどれか。

- A. ラジオアイソトープ (RI) の放射能は時間とともに減少してゼロとなる
B. 分解能はRI局在部位と銀粒子との距離をいう
C. ³Hの半減期は約60日である
D. 乳剤の潜像は放射線のイオン化力で形成される
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問34. 走査電顕試料の乾燥法について正しいのはどれか。

- A. 臨界点乾燥には液化二酸化炭素の代わりにドライアイスを用いてもよい
B. 臨界点乾燥法では試料の収縮は起こらない
C. 酢酸イソアミルは臨界点乾燥の前処理に用いられる
D. t-ブチルアルコール乾燥法では脱水操作は不要である
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問35. 走査電子顕微鏡で加速電圧を下げたときに正しいのはどれか。

- A. エッジ効果が増加する

- B. 試料ダメージが軽減する
 C. 焦点深度が深くなる
 D. 試料表面の情報が多くなる
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 36. 正しいのはどれか。

- A. 電子は磁界の向きと同じ向きの力を受ける
 B. 電子は電界の向きと反対向きの力を受ける
 C. 一樣な磁界の中に垂直入射した電子は円軌道を描く
 D. 一樣な電界の中に平行入射した電子は偏向される
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 37. 磁界レンズについて正しいのはどれか。

- A. コイル励磁電流を逆転すれば凹レンズが得られる
 B. 狭い領域に強い磁界を形成するためにポールピースを用いる
 C. コイル励磁電流の変動は球面収差の原因となる
 D. 拡大像は軸を中心とする回転を伴っている
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 38. 色収差について正しいのはどれか。

- A. 厚い試料で像がボケる原因となる
 B. 低加速電圧の方が影響が少ない
 C. 像の回転を発生させる
 D. 試料中における電子エネルギー損失が一因となる
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 39. 透過電子顕微鏡の収差について正しいのはどれか。

- A. 湾曲収差はスティグマートルで補正できる
 B. 回折収差の影響を防ぐには可能な限り大きな対物絞りを使用する
 C. 高倍率観察時は歪像収差の影響が大きくなる
 D. 対物レンズの球面収差は分解能に影響する
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 40. 生物切片の透過電顕観察時の操作について正しいのはどれか。

- A. コントラストを高めるために対物絞りを小さくした
 B. 電子ビーム照射に伴う試料の損傷を軽減するために加速電圧を下げた
 C. 最適なコントラストを得るために対物レンズ電流をジャストフォーカスから少し減少させた
 D. 試料汚染を防ぐために制限視野絞りを挿入した
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 41. 透過電顕像のコントラストについて正しいのはどれか。

- A. 加速電圧を高くすると散乱コントラストが低くなる
 B. 対物絞りを小さくすると散乱コントラストが高くなる
 C. 位相コントラストは焦点はずれ量に依存しない
 D. 電子染色は散乱コントラストを低くする
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 42. 走査電顕像のコントラストについて正しいのはどれか。

- A. 試料組成の違いによりコントラストが生じる
 B. 加速電圧を高くするとコントラストが高くなる
 C. 作動距離を長くするとコントラストが高くなる
 D. 表面の凹凸が大きいほどコントラストが高くなる
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 43. 真空ポンプについて正しいのはどれか。

- A. 油拡散ポンプは油の逆流による試料汚染に注意する
 B. スパッタイオンポンプは大気圧から使用できる
 C. ターボ分子ポンプは全ての気体に対してほぼ同じ排気速度を持っている
 D. ダイアフラムポンプの到達圧力は油回転ポンプより低い
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 44. グリッドについて正しいのはどれか。

- A. 銅グリッドは蒸留水中で保存する
 B. メッシュの数字が大きいほど網目が大きい
 C. 切片との接着性を高めるにはグリッドに親水化処理をする
 D. 支持膜や切片を積極的にグリッド面に接着させるには粘着処理を行う
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 45. 透過電顕観察での試料汚染防止について正しいのはどれか。

- A. 真空ポンプの油は長期間交換しない
 B. 電子線を集束して明るくする
 C. 試料周辺を冷却する
 D. 鏡筒内の真空を良くする
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 46. 倍率 1 万倍で撮影したフルサイズ (8.2 × 11.8 cm) のネガを 3 倍に引き伸ばして焼いた電顕写真について正しいのはどれか。

- A. 試料上で 1 μm の距離は写真上では 3 cm になる
 B. コントラストは変化しない
 C. 面積は 3 倍になる
 D. ネガ全体を引き伸ばすためには焦点距離 135 mm 以上のレンズを使用する
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 47. デジタル画像について正しいのはどれか。

- A. デジタル画像の最小単位を画素 (pixel) という
 B. 1 cm の中に含まれる画素の数を dpi という
 C. 0 と 1 の 2 進法で表示されるデジタル信号量の最小単位をビットという
 D. 画像解像度を確認するためのグラフをヒストグラムという
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 48. 走査電子顕微鏡で対物絞りの孔径を小さくした際の効果について正しいのはどれか。

- A. 分解能が高くなる
 B. 電子線の開き角が小さくなる
 C. 焦点深度が浅くなる
 D. レンズ収差が大きくなる
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 49. 走査電子顕微鏡の像検出について正しいのはどれか。

- A. 組成コントラストを得るため二次電子を検出した
 B. チャージアップの影響を軽減するため反射電子を検出した
 C. 試料表面の微細な形状を観察するために反射電子を検出した
 D. エッジコントラストを軽減するため反射電子を検出した
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問 50. 光学顕微鏡について正しいのはどれか。

- A. 焦点深度は開口数が高いほど浅くなる
 B. 分解能は開口数が高いほど高くなる
 C. 倍率が高くなるほど焦点深度は深くなる
 D. アクロマートは湾曲収差補正されたレンズである
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

2012年度日本顕微鏡学会電子顕微鏡技術認定試験問題一級技士Ⅰ（生物）

12題の問題のうち、問1～問6は全問解答し、問7～問12はその中から4問を選んで解答しなさい。なお、選択しなかった問の解答欄には、大きく×印を記入しなさい。

【必須問題】

問1. ()の中にあてはまる最も適切な語句を語群より選び、記号で答えなさい。(10点)

神経細胞は興奮を伝える働きをする。神経細胞の核を持つ部分を(1)とよび、その周りからは2種類の神経突起が出ている。一つは(2)と言われるもので、多極性の神経細胞ではこの突起をたくさん持っている。もう一つは(1)から一本だけ出ている(3)である。

神経線維には(3)の周りに(4)という絶縁体を持つ有髄神経線維と、(4)を持たない無髄神経線維が存在する。この(4)は末梢神経系では(5)によって作られる。(4)のとぎれている部分を(6)とよび、この部分を介して(7)が行われるために、有髄神経線維は無髄神経線維と比べて伝導速度が速い。

神経細胞同士で興奮を伝える部分を(8)とよび、(8)前膜側(興奮を伝える側)の神経終末には神経伝達物質を含んだ(9)が多数存在する。この神経伝達物質には(10)などが知られている。

【語群】

A. 髄鞘(ミエリン鞘) B. シナプス C. 細胞体
D. ランヴィエ絞輪 E. 軸索 F. 樹状突起 G. アセチルコリン
H. シナプス小胞 J. シュワン細胞 K. 跳躍伝導

問2. 透過電子顕微鏡下での形態観察を目的として、一般的な動物組織をアルデヒド系固定液で浸漬固定する際に注意すべき点を5つあげ、それぞれについて説明しなさい。(10点)

問3. 以下の文章は、走査電子顕微鏡を使用して生物試料の内部構造を観察する方法である。()にあてはまる最も適切な語句を語群より選び、記号で答えなさい。(10点)

試料作製法には、細胞・組織を固定剤を用いて構造や形態を安定化する(1)と、試料を液体窒素で凍結し形態や構成成分の移動・変形を防ぐ(2)がある。また走査電子顕微鏡で生物試料の内部構造を観察する方法として用いられるオスミウム-DMSO-オスミウム法は(3)の観察法として知られている。この方法は①(4)四酸化オスミウム固定、②緩衝液による洗浄、③25%と50%のDMSO処理、④液体窒素温度で試料を(5)、⑤(6)四酸化オスミウムに浸漬して(7)、その後、脱水、置換(*t*-ブチルアルコール等)の通常の手順で走査電子顕微鏡の試料作製を行う。この方法では、四酸化オスミウムが膜成分の(8)を固定する一方で、蛋白質を(9)する性質を併せ持つことを利用している。(5)後に(10)等を溶出し、(3)を残す方法である。

【語群】

A. 細胞小器官 B. 浸軟処理 C. 凍結切断 D. 1% E. 核
F. 0.5% G. 重合 H. 化学固定 J. 0.1% K. 2% L. 破壊
M. 消化 N. 糖脂質 P. 細胞間質 Q. 氷包埋 R. 飽和脂肪酸
S. 物理固定 T. リン脂質 U. 細胞質基質 W. 結合組織

問4. エポキシ樹脂の調製は通常Luftの処方で行う。エポキシ当量が150の場合のLuftの処方は以下の通りである。

A液: Epon 812 71 ml DDSA 100 ml
B液: Epon 812 100 ml MNA 78 ml

この処方によってA:B=5:5の樹脂を100ml調製する場合、Epon 812, DDSA, MNAの容量は各々どのくらいになるか計算しなさい。また、DMP-30は全容量に対して何%加えればよいか、さらにDMP-30を過剰に加えると樹脂ブロックはどのようになるのか説明しなさい。(10点)

問5. ()にあてはまる最も適切な語句を語群より選び、記号で答えなさい。(10点)

(1)とは、試料を凍結したまま薄切し、電顕観察用の超薄切片を作製する方法である。組織内の金属やイオンの分布を明らかにする(2)や金コロイドを用いた(3)などに広く応用されている。徳安法と呼ばれる(3)は、抗体と反応させた後の切片をリンタングステン酸、あるいは(4)を含む(5)で処理して、(6)と(7)を同時に行う。

(8)処理凍結切断レプリカ法では、白金とカーボン蒸着による細胞膜レプリカから界面活性剤である(8)で膜外成分を除去して、免疫反応を行う。これにより、細胞膜の(9)や(10)の分布を検出することができる。

【語群】

A. 凍結置換固定法 B. 凍結切断法 C. 凍結エッチング法
D. 凍結超薄切片法 E. 質量分析 F. 元素分析 G. 免疫電顕法
H. トレハロース J. ポリビニルアルコール K. タンニン酸
L. オスミウム M. 酢酸ウラニル N. 脱水 P. 重合
Q. 電子染色 R. 包埋 S. トリトンX-100 T. SDS
U. タンパク質 W. 脂質 X. 構造

問6. 凍結技法について()の中にあてはまる最も適切な語句を語群より選び、記号で答えなさい。(10点)

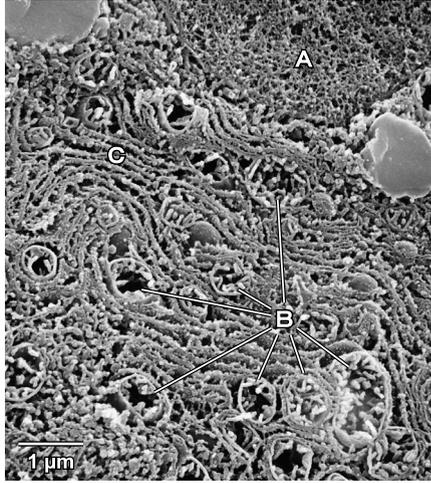
冷却速度を速くするためには、極低温の冷媒が必要である。冷媒には液体(1)、液体(2)、液体ヘリウムなどがある。浸漬法の場合は、(3)と融点の差が小さいと試料冷却時に冷媒が試料で暖められて(4)となる。試料周囲の(4)は熱伝導率が極めて悪く、冷却速度を低下させる。そこで(3)と融点の温度差が(5)冷媒がよいことになる。液体(2)は、この温度差が小さく適さないが、液体(1)は一般的によく使用される。

【語群】

A. 凝固点 B. 大きい C. プロパン D. 融点 E. 速い
F. 小さい G. 窒素 H. 沸点 J. 酸素 K. 遅い L. 気体
M. 固体 N. 液体 P. アセトン

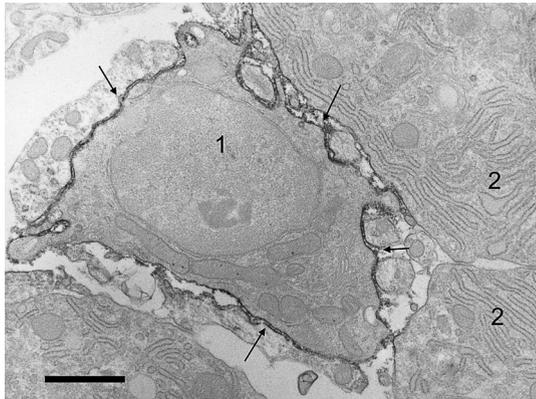
【選択問題】

問7. 走査電子顕微鏡で細胞内部を観察する方法として種々の方法が考案されている。写真は肝細胞の内部構造を観察したものである。各設問に答えなさい。(10点)



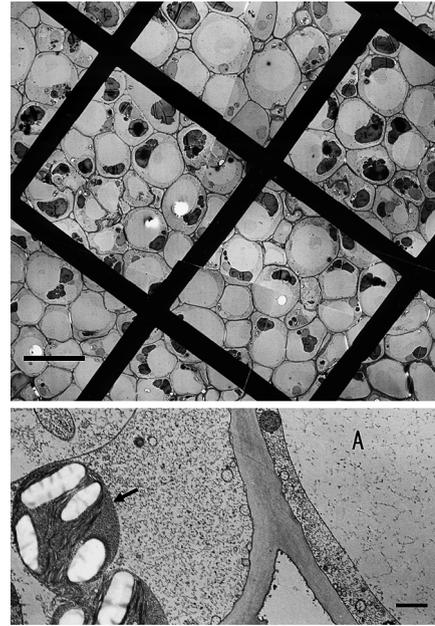
- 1) 写真を得るための試料作製法名を述べなさい。
- 2) A, B, Cで示した記号の構造名称と機能を述べなさい。
- 3) 方法の特徴を3つ述べなさい。

問8. 写真は免疫電顕法(包埋前染色法)で、ある組織の細胞の表面抗原を観察したものである。切片はクエン酸鉛で単染色してある。矢印は陽性部位を示す。スケールバーは1 μmである。(10点)



- 1) 構造1, 2がみられた。これらの構造はそれぞれ何か。
- 2) この免疫電顕法で反応産物の可視化に使われているものはどれか。次のA~Eより選びなさい。
 - A. 生じたリン酸を鉛イオンで捕捉して不溶性のリン酸鉛を観察している。
 - B. コロイド金標識二次抗体を使用して金粒子を観察している。
 - C. 使用した抗体タンパク質の電子密度が高いので、これを観察している。
 - D. DABと四酸化オスミウムによるオスミウム・ブラックを観察している。
 - E. あらかじめ入れてあるルテニウムレッドを観察している。
- 3) 切片を酢酸ウラニル・クエン酸鉛の二重染色ではなく鉛の単染色にした理由は何か。

問9. 写真はある植物組織の低倍率(上図)と高倍率(下図)の透過電顕像である。各設問に答えなさい。スケールバーは50 μm(上図)、1 μm(下図)を示している。(10点)

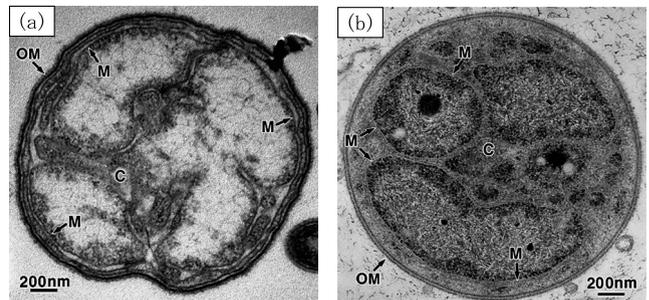


- 1) 下図のAと矢印の名称を記入しなさい。
- 2) 電顕像からこの組織の特徴や性状を推測し、200字以内で述べなさい。

問10. 電顕観察用に試料を凍結する方法として、植物では金属圧着法よりも高圧(加圧)凍結法がよく使用される。これは、植物細胞の構造的な理由から、金属圧着法では動物組織に比べ良好な凍結領域が狭くなっているためと考えられている。(10点)

- 1) この凍結に障害となっている植物独特の細胞構造は何か。
- 2) なぜ、植物組織では、金属圧着法ではうまく凍結されないことが多いのか。その理由を1)の構造と関連して述べなさい。

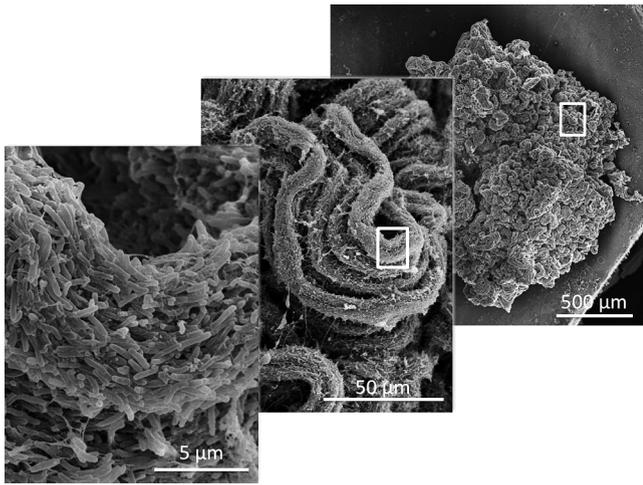
問11. 写真(a)は、グルタルアルデヒドと四酸化オスミウムによる化学固定、写真(b)は、グルタルアルデヒド固定後に、四酸化オスミウム・アセトンによる急速凍結置換固定を行った微生物の超薄切片像である。各設問に答えなさい。(10点)



(J. Electron. Microsc. 60: 283-287, 2011 より)

- 1) 写真(b)は、写真(a)と比べて、どのような特徴があるか。細胞の形態、膜(OM:外膜, M:膜)の形態、および細胞質(C)の構造に留意して答えなさい。
- 2) グルタルアルデヒド固定後に、急速凍結置換固定を行うのは、どのような場合に有用であるか。例を二つあげて説明しなさい。

問12. 写真はある細菌の固形培地上のコロニーを走査電顕で観察した際に見られたコード形成と呼ばれる特異形態の拡大像である。この菌はバイオセーフティーレベル3領域での取り扱いが義務付けられている慢性呼吸器疾患の原因菌であり、写真はこの細菌のATCC標準株(全薬剤感受性)を約4週間培養して得られたものである。各設問に答えなさい。(10点)



1) この細菌を下記の語群より選択しなさい。

【語群】

- A. アスペルギルス・フミガタス (*Aspergillus fumigatus*)
 - B. クレブシエラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumoniae*)
 - C. 結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)
 - D. 肺炎マイコプラズマ (*Mycoplasma pneumoniae*)
 - E. ヘモフィルス-インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*)
- 2) このような走査電顕像を得るために用いられる固定から観察までの一般的なサンプル処理方法を、各段階におけるバイオセーフティーに関する注意点(実験室設備等)を含めて順序立てて箇条書きで具体的に述べなさい。

2012 年度日本顕微鏡学会電子顕微鏡技術認定試験問題一級技士 II (鏡体・共通技術)

12 題の問題のうち、問 1～問 7 は全問解答し、問 8～問 12 はその中から 3 問を選んで解答しなさい。なお、選択しなかった問の解答欄には、大きく×印を記入しなさい。

【必須問題】

問 1. 電子が試料を通過する時、試料構成原子と入射電子との相互作用により、試料を構成する元素の種類や状態を知る手掛かりとなる様々な情報を持つ信号が生じる。それらの信号に関する以下の設問の答えとして最も適切な語句を語群より選び、記号で答えなさい。(10 点)

- 1) 電子エネルギー損失分光分析に利用される信号は何か。
- 2) 試料のごく表面から放出され構成元素の分析に利用される信号は何か。
- 3) 固有のエネルギーを持つ電磁波として放出され、元素分析に利用される信号は何か。
- 4) エネルギー変化を伴わずに進行方向を変えて放出される信号は何か。
- 5) 蛍光情報に基づく信号は何か。

【語群】

- A. 透過電子 B. トンネル電流 C. 弾性散乱電子
D. オージェ電子 E. 特性 X 線 F. 非弾性散乱電子 G. 反射電子
H. カソードルミネッセンス J. 二次電子 K. 赤外線

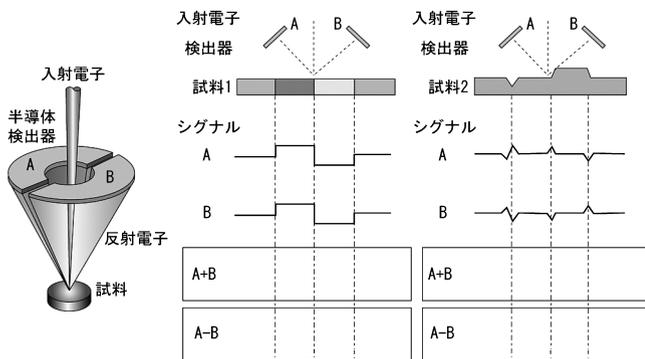
問 2. 電子レンズの収差について各設問に答えなさい。(10 点)

- 1) ザイデルの 5 収差を語群より選び、記号で答えなさい。
- 2) 電子顕微鏡の分解能を決める収差三つを語群より選び、記号で答えなさい。
- 3) 透過電子顕微鏡で色収差を軽減する方法を二つ述べなさい。

【語群】

- A. 回折収差 B. 球面収差 C. 歪像収差 D. わん曲収差
E. 色収差 F. コマ収差 G. 非点収差

問 3. 反射電子像は図に示すように、試料の上方に設置した二個の半導体検出器 A、B で反射電子を検出することで得られる。チャート左は組成によって検出される反射電子像のシグナルを、またチャート右は試料断面形状の違いによって検出される反射電子像のシグナルを示している。図に A と B を加算したとき (A + B) と減算したとき (A - B) のシグナルをチャートの各枠内に書き込み、それぞれどのような像が得られるかを述べ、理由を説明しなさい。(10 点)



問 4. 以下は透過電子顕微鏡のコントラストに関する説明である。() にあてはまる最も適切な語句を語群より選び、記号で答えなさい。(10 点)

図 1 は銅薄膜の結晶サイズと分散を観察した例である。このような写真は一般に (1) 視野像と呼ばれ (2) な (3) 絞りを使うことでコントラストが向上する。

図 2 は図 1 と同一視野のある結晶面を選択的に光らせて撮影した例である。このような写真は一般に (4) 視野像と呼ばれ、光らせた結晶面に対応する (5) を (3) 絞りで選択して結像する。図 1 と図 2 は (6) コントラストであり、試料で (6) , (7) した電子を (3) 絞りで遮るにより形成される。

図 3 は単結晶 Si を高倍率で観察したものであり格子が写っている。このような写真は一般に (8) 像と呼ばれ、試料上で (7) した電子が (9) して生じた (10) コントラストで形成される。

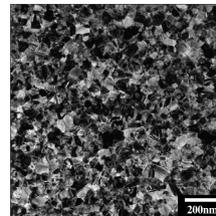


図 1

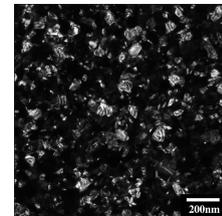


図 2

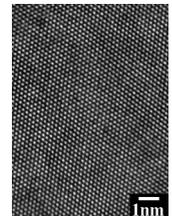


図 3

【語群】

- A. 明 B. 暗 C. 小さ D. 大き E. コンデンサー F. 対物
G. 制限視野 H. 高分解能 J. 広視野 K. 散乱 L. 吸収
M. 位相 N. 干渉 P. 回折 Q. 回折斑点

問 5. () にあてはまる最も適切な語句を語群から選び、記号で答えなさい。(10 点)

(1) は (2) 型のポンプであり、(3) の状態から使用でき、粗排気用のポンプとして利用される。回転子が毎分千数百回転の回転を行うことで、気体の吸入、圧縮、排出の工程が繰り返し行われることによって真空室内からガスを排気する。

(4) は (2) 型のポンプであり、横隔膜や振動板をクランク機構によって往復させる圧縮機で、オイルフリーのポンプである。医療用、分析器用などの補助ポンプとして利用される。

(5) は 1 Pa 程度の真空状態から使用される (2) 型のポンプで、粗排気ポンプと組み合わせて使用される。(6) でポンプ内にある油を加熱して蒸発させ、それを狭いノズルから超音速で噴出させる。吸入口の近くにある気体は、このジェット噴流に巻き込まれて下方に押しやられて排気口から排出される。

(7) は、高速で回転している動翼の面に衝突した気体分子に、特定の方向の運動量を与えることで、気体分子を (3) 側に輸送して真空を作り出す (2) 型のポンプである。粗排気ポンプと組み合わせて使用され、到達圧力は形式により $10^{-6} \sim 10^{-8}$ Pa である。すべての気体に対してほぼ同じ排気速度で排気できるという特徴をもつ。

(8) は、化学的活性を持つ金属のゲッター作用を利用した (9) 型の真空ポンプである。(3) からは使用せず、動作圧力は 10^{-3} から 10^{-8} Pa 程度である。(10) 電子銃やショットキー型電子銃を利用した電子顕微鏡に不可欠なポンプである。

【語群】

- A. 油回転ポンプ B. 低圧 C. ヒーター D. ダイアフラムポンプ
E. 熱電子型 F. スパッタイオンポンプ G. 大気圧 H. 開放
J. 油拡散ポンプ K. モーター L. 電界放出型 M. 非開放
N. ターボ分子ポンプ P. クライオポンプ Q. オイル

問6. 以下の設問に答えなさい。(10点)

- 1) タングステン線に蒸着用金属を巻き付けて、タングステン線に電流を流して加熱することで、金属を蒸着する方法がよく使われる。電流を流して抵抗加熱する金属としてタングステンが用いられるのはどのような性質によるものか、性質を二つ記しなさい。また、この方法で蒸着できる金属を三つ記しなさい。
- 2) 有機・生物試料の走査電顕観察では、試料への導電性付与のために金属コーティングがよく行われる。使用される金属の種類を三種とコーティング方法を二つ記しなさい。

問7. () に当てはまる最も適切な語句を語群より選び、記号で答えなさい。(10点)

走査電子顕微鏡は、(1) から放出された電子を(2) と(3) で細く絞って得られた電子線を(4) を用いて二次元的に試料表面を走査する。真空中で電子線を物体(試料)表面に照射すると、電子と試料の(5) により、(6)、(7)、特性X線、陰極線蛍光などが発生する。(6) は試料表面の微細構造観察に、(7) は試料の組成コントラストの観察に用いられる。一般的に走査電子顕微鏡は、 $10^{-4} \sim 10^{-5}$ Pa 程度の高真空中で観察することから、水分を含む試料は乾燥が必要である。しかし近年、含水試料をそのまま観察できる(8) が開発され製品化されている。本装置を用いると、チャージアップが軽減されるメリットがあることから、(9) 観察が可能である。また、含水試料の観察では、試料温度を下げて水の(10) を試料室の飽和蒸気圧力に近づけることで、観察中の水の蒸発を抑制できる。

【語群】

- A. 試料前処理 B. 二次電子 C. コンデンサレンズ
D. 電子ビーム E. 蒸気圧 F. 焦点合わせ G. 反射電子
H. 電子銃 J. 低真空型走査電子顕微鏡 K. 無蒸着
L. 偏向コイル M. 対物レンズ N. コントラスト P. 相互作用

【選択問題】

問8. 以下は電子線回折に関する説明である。() にあてはまる最も適切な語句を語群より選び、記号で答えなさい。(10点)

図1は(1) リングと呼ばれ(2) 結晶試料から得られる回折パターンである。図2は(3) 結晶試料から得られる回折パターンである。これらは対物レンズの(4) 面に結像されたものを電子レンズでフィルム面上に(5) したものであり、その(5) 率は試料面から(6) Lだけ離れた面に結像されたものに相当する。間隔Rを測ることにより(7) を求めることができ、その公式には一般に下式が用いられる。

$$R \times (7) = (8) \times L \text{ (R, Lは図3を参照)}$$

電子線回折を行うには(9) 絞りで試料を選択するが、この絞りは対物レンズの(10) 面に挿入される。



図1

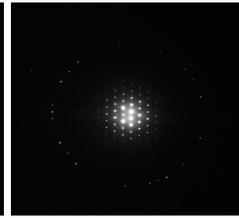


図2

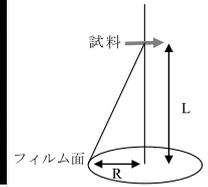


図3

【語群】

- A. デバイーシェラー B. フレネル C. 単 D. 多 E. 結像
F. 後焦点 G. カメラ長 H. 結晶面間隔 J. 制限視野 K. 対物
L. 拡大 M. 縮小 N. 電子線波長

問9. 電子顕微鏡の保守に関する以下の設問の答えを解答欄に記しなさい。(10点)

- 1) 対物絞りが汚れた時には拡大像にどのような影響が出るか。
- 2) 対物絞りに付着した汚れを除去する方法を簡単に記しなさい。
- 3) Oリングが傷ついた時には装置にどのような影響が出るか。
- 4) 有機溶剤を使用する際の注意点は何か。
- 5) 油回転ポンプのオイルは何を目安にして補充すればよいか。

問10. 透過電顕観察において電子線照射の試料への影響を述べた文である。() にあてはまる最も適切な語句を語群より選び、記号で答えなさい。(10点)

試料に電子線を照射することにより電子線の(1) の一部が試料に与えられ、試料の(2) に変化をもたらし、(3) の原因となる。この変化の中には、原子や分子の(4)、化学結合の(5)、高分子の(6)あるいは(7)が含まれる。このような変化は有機・生物系試料のように主として(8) で構成されている試料では受けやすい。この変化を少なくするには(9) を弱くしたり、(10) を短くしたりするなどの方法がある。

【語群】

- A. 分解・ガス化 B. 軽元素 C. 照射強度 D. エネルギー
E. 切断 F. イオン化 G. 重元素 H. 低分子量化 J. 構造
K. 電子線損傷 L. 照射時間 M. 試料汚染 N. 再結晶化

問11. 分析電子顕微鏡について各設問に答えなさい。(10点)

- 1) 特性X線でわかる情報を述べなさい。
- 2) 特性X線で分析する手法を二つ述べなさい。
- 3) 2)の手法の特徴を簡単に述べなさい。

問12. () にあてはまる最も適切な語句を語群より選び、記号で答えなさい。またこの文章はどのような装置について述べたものか、装置の名称を述べなさい。(10点)

試料で反射され対物レンズを通った光に対して、(1) が合う位置にピンホールを置いて、それ以外の位置からの光を排除する仕組みのことを(2) という。これまでの光学顕微鏡では(3) の像も見えてしまうのに対して、この方法では試料内の(1) が合った面内の像しか観察できない。この原理を応用し、明るい(4) 光で試料面上(x-y面上)を(5) して一枚の像を得る装置が開発された。この像は観察対象のある深さ位置の(6) 像になる。その像を順次(7) 方向に重ね合わせることで、対象物の立体構造が得られる。(8) された試料の観察に威力を発揮している。

【語群】

- A. 断層 B. x C. y D. z E. 焦点はずれ F. 焦点
G. 堆積 H. 走査 J. レーザー K. 共焦点 L. ギムザ染色
M. 光源 N. 対物絞り P. 鏡面 Q. 蛍光標識